

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

**RAISSA DELAIS PARENTE MAGALHÃES**

**PRINCIPAIS AGENTES BACTERIANOS COM POTENCIAL DE USO  
NO BIOTERRORISMO**

Trabalho de conclusão de curso,  
apresentado em forma de artigo como  
requisito ao bacharelado em biomedicina  
no UniCEUB, sob orientação do prof. Paulo  
Roberto Queiroz.

BRASÍLIA  
2019

## Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Eustáquio e Zilneyde, por me proporcionarem a oportunidade de que eu fizesse a faculdade, abrindo mão inúmeras vezes de suas vontades, para que eu sempre tivesse as melhores chances, por sempre permanecerem ao meu lado, dando-me o suporte e o encorajamento necessário.

A minha irmã, por me dar um amparo sem igual, me auxiliando a superar incontáveis dificuldades, por contribuir ao longo de minha jornada, sendo quem mais me mantém equilibrada em meio ao meu caminho.

Aos meus amigos, por sempre estarem comigo, dando apoio, carinho e força para persistir em meus objetivos, acompanhando meu cotidiano, compartilhando tantas alegrias e bons momentos.

Agradeço aos meus professores, meus mestres, com carinho. Por me passarem conhecimento e paixão. Em especial meu orientador Paulo, por me guiar em meio minha jornada acadêmica, iluminando o caminho a ser trilhado com enorme paciência, sempre respeitando meu tempo e minhas limitações. Em meio a tudo isso, sempre com enorme compreensão e confiança, possibilitando a elaboração desse trabalho.

A todos aqueles que participaram dessa jornada comigo, direta ou indiretamente, e àqueles que já não estão mais presentes, mas permanecem, o meu muito obrigada.

*“O que prevemos raramente ocorre, o que menos esperamos geralmente acontece.”*

-Benjamin Disraeli

## Principais agentes bacterianos com potencial de uso no bioterrorismo

Raissa Delais Parente Magalhães <sup>1</sup>

Paulo Roberto Martins Queiroz <sup>2</sup>

### Resumo

O bioterrorismo pode utilizar diversos microrganismos como arma biológica, sejam eles vírus, bactérias, parasitas ou as suas toxinas. As bactérias apresentam uma maior visibilidade de uso como armamento, estando nas classificações de potencial de uso como primeiras escolhas. O objetivo foi descrever as principais bactérias como potencial de uso no bioterrorismo. A metodologia consiste em uma revisão bibliográfica narrativa. O agente mais provável de uso, em que já apresenta histórico é o *Bacillus anthracis*, sendo precedido por *Yersinia pestis*, e sem descrição de utilização, os agentes *Francisella tularensis* e a toxina de *Clostridium botulinum*. O entendimento das classificações é importante para a detecção, juntamente com o conhecimento dos profissionais sobre o tema, minimizando o tempo de resposta. As ameaças de um ataque biológico não devem ser desconsideradas, pois a constante evolução de tecnologias facilita a manipulação dos agentes. O alto potencial letal dos agentes mantém elevada a visibilidade de uso, justificando assim, seu emprego histórico. Contudo, o conhecimento prévio é fundamental para prevenção e resposta.

**Palavras-chave:** Bioterrorismo; Guerra Biológica; Armas biológicas; *Bacillus anthracis*; *Clostridium botulinum*; *Yersinia pestis*; *Francisella tularensis*.

## Foremost bacterial agents with potential for use in bioterrorism

Raissa Delais Parente Magalhães <sup>1</sup>

Paulo Roberto Martins Queiroz <sup>2</sup>

### Abstract:

Bioterrorism can use many microorganisms as a biological weapon, such as viruses, bacteria, parasites or their toxins. Bacteria have a higher visibility as a weapon, being considered the first choice in potential use classifications. The aim was to describe the main potential use bacteria in bioterrorism. The methodology consists of a narrative bibliographic review. The most probable agent of use with history of use is the *Bacillus anthracis*, preceded by *Yersinia pestis*, and without history of use, the agents *Francisella tularensis* and *Clostridium botulinum*'s toxin. Understanding the classifications is important for the detection, along with the professionals's knowledge on the subject, minimizing the response time. The threats of a biological attack should not be disregarded, as the constant evolution of technologies facilitates the manipulation of agents. The high lethal potential of the agents maintains high visibility of use. However, prior knowledge is critical for prevention and response.

**Key words:** Bioterrorism; biological warfare; biological weapons; *Bacillus anthracis*; *Clostridium botulinum*; *Yersinia pestis*; *Francisella tularensis*.

<sup>1</sup> Estudante de Biomedicina do UniCEUB.

<sup>2</sup> Doutor em Biologia Animal – UnB. Professor do curso de Biomedicina do UniCEUB

## 1. INTRODUÇÃO

O bioterrorismo é um termo que descreve o uso intencional de agentes, geralmente encontrados na natureza, para gerar danos ao homem, animal, meio ambiente e material, este último por meio de degradação. Tem como objetivo não apenas a morbidade e mortalidade, mas também caos social, econômico e político. Seu grande impacto se dá, não só pela capacidade de gerar vítimas, mas pelo poder de perturbação, terror e pânico (ERENLER; GÜZEL; BAYDIN, 2018).

O conceito é comumente confundido com guerra biológica, contudo difere-se pelo intuito do uso militar, em meio a guerras, para incapacitar o inimigo, evitando que revidem. Porém o descontrole quanto à capacidade de quem afetará lhe oferece uma baixa logística, atingindo tanto tropas opostas quanto civis (JANSEN *et al.*, 2014).

As armas biológicas visam, por meio do emprego de microrganismos, gerar surtos de doenças infecciosas. Os principais patógenos utilizados são as bactérias, contudo podendo fazer uso de fungos, vírus e toxinas, que são alterados com a finalidade de aumentar a capacidade de propagação e resistência a medicamentos (APPEL, 2009).

Em virtude da fácil dispersão em diversos meios como água, comida e sprays de aerossol, os agentes biológicos se tornam uma escolha comum para o terrorismo, além do baixo custo de produção, facilidade de contágio e seus efeitos generalizados, os quais podem surgir após dias ou semanas do contágio (JANIK *et al.*, 2019).

A escolha do agente a ser utilizado, como potencial arma, se dá a partir da classificação do agente, analisando qual melhor se adequa a situação. Critérios de fácil manuseio, acesso e dispersão, são imprescindíveis para seleção, principalmente pela diminuição de seus custos. Tem-se como exemplo o *Bacillus anthracis*, que em forma de esporos, possui uma capacidade de sobreviver por um longo período de tempo, além de lhe serem ofertadas múltiplas formas de contágio ao hospedeiro alvo, outrossim, essas características são vantajosas, pois seus métodos de detecção se tornam difíceis e demorados (SCHATZMAYR; BARTH, 2013).

Ademais, para analisar os critérios de uma arma, são mensurados também os fatores que, além de fácil ataque, geram desestabilização do alvo a ser atingido, como, por exemplo, pelo fato do Brasil ter, em sua grande parte, renda econômica gerada por meio da agricultura, tende a ponderar a possibilidade da ocorrência de um terrorismo agrícola ou agroterrorismo, o que constitui um risco não somente econômico como também ecológico. Esse ato pode ser definido como o uso de patógenos para gerar malefícios a plantações, por mais que seja pouco estudado e sem descrição na literatura de seu uso. Tendo como

desafio a pesquisa e confirmação do feito, pois é necessária clara diferenciação em relação à outras explicações como surtos de doenças (CALDAS; PERZ, 2013).

Devido ao fato da existência de poucas publicações brasileiras, alguns profissionais não acreditam que o tema seja pertinente a saúde pública do país, mas a órgãos de defesa civil, tornando o assunto pouco abordado no meio acadêmico e profissional. Outros desacreditam a possibilidade do Brasil como alvo de ataques biológicos, mesmo com a existência de suspeitas correlacionadas com o ocorrido em 1990, na qual, plantações de cacau foram infestadas por parasitas conhecidos com vassoura de bruxa, no Sul da Bahia (RAMBAUSKE; CARDOSO; NAVARRO, 2014). Contudo, devido à ausência de revogação do ato, não foi enquadrado com um terrorismo agropecuário, somente uma disseminação da doença no cultivo (CARDOSO; CARDOSO, 2011).

As equipes de saúde pública ou privada necessitam ter amplo conhecimento, para uma melhor resposta e controle dos tipos de terrorismo biológico. Desta forma, possibilitando uma melhor contenção dos agravos por conta da doença, sendo esta classificada como um surto ou uma epidemia, de modo natural ou intencional. As características de ambas são semelhantes, assim sendo difícil diferenciar quando é uma epidemia causada de forma natural daquela causada por uma arma biológica. A partir disto, terão compreensão da importância, atuação e fatores de fragilidade (ZAPPALÁ, 2017).

O Brasil é um país em desenvolvimento que com o passar do tempo está sendo cada vez mais sede de grandes eventos, além dos que já possui como carnaval, eventos esportivos, shows, festas típicas regionais e afins. Contudo, seu preparo para lidar com possíveis ataques biológicos ainda é insuficiente. Um exemplo da falta de capacidade de resposta a novos patógenos foi quando recebeu a Copa do Mundo e as olimpíadas, que ocorreu surgimento de surto do vírus Zika, sem nenhum preparo para detecção, demonstrando que em caso de bioterrorismo, não poderia conter os agravos, gerando uma possível disseminação para outros países, por conta da grande circulação de pessoas nestes eventos (VILLA, 2017).

Devido a grandes avanços em áreas biotecnológicas, nos últimos anos, principalmente devido ao sequenciamento do genoma humano, e de outras espécies, houve o aumento da visibilidade destes para uso como potencial de armas. Embora a probabilidade de bioterrorismo seja improvável e com baixas taxas de morbidade, mantém-se elevada a possibilidade de um possível uso como arma (SUK *et al*, 2011).

A utilização de agentes bacterianos como potencial de uso para o bioterrorismo se fez um assunto de grande preocupação, tendo em vista que nos últimos anos houve um aumento da disponibilidade de sequências genômicas, análises metagenômicas, ferramentas proteômicas e bancos de dados sobre os principais patógenos bacterianos da

biodefesa, em que um grupo relativamente pequeno de agentes se destaca, sendo eles causadores de doenças fatais, demonstrando a necessidade de elucidar suas características de virulência e patogenicidade e traduzir o impacto no hospedeiro. E juntamente as tecnologias para as técnicas microbiológicas moleculares e de manipulação genética também se elevaram, em contrapartida há variedade de desafios não atendidos para o desenvolvimento de abordagens e contramedidas diagnósticas e terapêuticas eficazes (TEGOS, 2013).

O objetivo deste trabalho foi descrever as principais bactérias com potencial de uso para o bioterrorismo, seus mecanismos de transmissão e ação no hospedeiro.

## **2. METODOLOGIA**

A revisão bibliográfica consiste em abordar determinado tema, em meios de comunicação diversos, tais como livros, revistas, periódicos digitais, entre outros, com o objetivo de fundamentar teoricamente determinado tema (VOSGERAU; ROMANOWSKI, 2014). Dentro desta metodologia, contém a revisão bibliográfica narrativa, que visa uma análise crítica e pessoal do autor, aprofundando o conhecimento. É considerada qualitativa, pois não permite a reprodução dos dados e não responde questões específicas (MINAYO; CAVALCANTE, 2010).

Para o presente estudo, foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa, sobre bioterrorismo, com enfoque nas principais bactérias com potencial de uso bioterrorista. Como banco de dados, foram utilizados: Public Medline (PubMed) e biblioteca virtual em saúde (BVS). Para pesquisa dos artigos utilizou-se as palavras-chave: Bioterrorismo; Guerra Biológica; Armas biológicas, nos idiomas inglês, português e espanhol, para a busca de documentos publicados entre os anos de 2008 e 2018, anos anteriores foram utilizado desde que considerados relevantes.

## **3. DESENVOLVIMENTO**

### **3.1 Histórico do bioterrorismo**

As ações bioterroristas acompanham a evolução da história humana, com diversos episódios já descritos, nos quais, os relatos primordiais de emprego de agentes biológicos, se dão por meio dos povos Neandertais, aplicando fezes de animais nas pontas das flechas, aumentando sua capacidade letal. Na idade média, corpos de animais e homens mortos eram colocados em poços de água, a fim de envenenar outrem. Partindo da mesma ideia de contaminação, com mortos, no século XIV, na Criméia, foram jogados, dentro dos muros da

cidade, corpos infectados com o agente causador da peste, gerando assim uma grande epidemia (PIRES; SILVA, 2008).

No século XVIII, em meio à guerra franco-indígena, o comandante britânico, Jeffrey Amherst, deliberadamente, infectou uma tribo indígena por meio de cobertores dados como presentes, contaminados com Varíola, com a finalidade de reduzir as tribos, causando uma epidemia. A disseminação entre tribos nativas também se deu pelo contato de colonos, contribuindo para o aumento do agravo (BRAGA, 2011).

Durante a Primeira Guerra Mundial, a Alemanha desenvolveu um programa de armas biológicas, com o intuito de aumentar o potencial destrutivo. Isolaram e cultivaram *Bacillus anthracis* e *Pseudomonas mallei*, as quais seriam utilizadas para ofensivas em meio às batalhas. Somente durante a Segunda Guerra Mundial que houve descrições de testes destas armas, pela Alemanha, que em 1940 segregou seus laboratórios de química e biologia, a fim de ampliar melhor seus estudos a respeito desse potencial de uso. Não ficando para trás, o Japão, no mesmo ano, desenvolveu bombas biológicas, que após testadas não apresentaram eficácia, mas prosseguiram com o aprimoramento para que entre 1937 e 1944 fossem utilizadas contra a China e a URSS, fazendo uso de pulgas contendo o agente causador da peste, além de usar *Bacillus anthracis* e *Neisseria meningitis* (BARBOSA, 2016).

Os dados mais recentes que se tem de ataques biológicos terroristas se dão em pouco tempo após o acontecimento de 11 de setembro de 2001, nos Estados Unidos, em New York, posteriormente, foram enviada cartas com antraz pelo correio, em que dos 11 casos confirmados, destes, cinco acarretaram em óbito. Apesar do ato não ter sua origem esclarecida de fato, este foi um importante ato para melhorias de estratégias de segurança contra terrorismo biológico (ALMEIDA, 2006).

### **3.2 Principais agentes com potencial de uso**

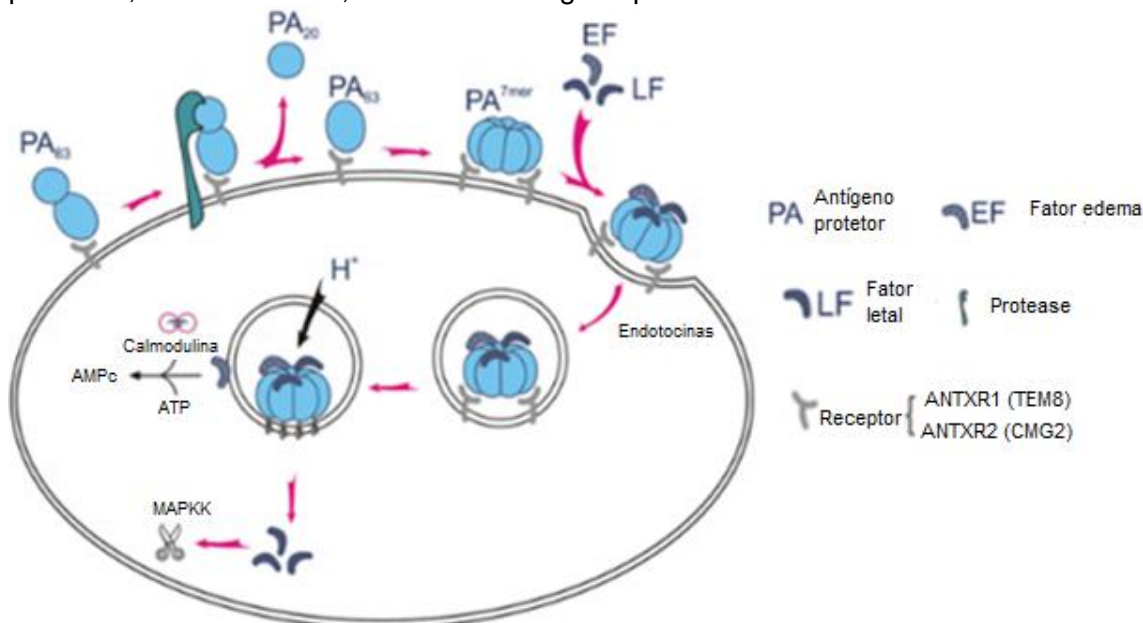
#### **3.2.1 *Bacillus anthracis***

A bactéria, *Bacillus anthracis*, um bacilo Gram positivo aeróbio, possui como característica ser um agente biológico formador de esporos, o que lhe confere uma alta resistência no meio em que vive, sobrevivendo em meio às condições ambientais adversas. Além disso, devidos à sua virulência, é de almejado como potencial de arma bacteriológica. A patogênese se baseia principalmente em três endotoxinas: fator de edema, que é uma adenilato ciclase que provoca aumento na concentração de AMP cíclico, o que causa o extravasamento de fluido dos tecidos, que causa edema. O fator letal, que é uma protease envolvida na clivagem da fosfoquinase, ativando a via de transdução de sinal da proteína



quinase ativada por mitógenos, cuja ação regula o crescimento celular, no caso inibindo. E o antígeno protetor, responsável pela fixação, que forma poros na membrana, permitindo a passagens dos dois fatores anteriormente citados (PAVAN *et al*, 2011).

**Figura 1:** Descrição do potencial de virulência de *Bacillus anthracis*, a partir de seus fatores proteicos, fator de edema, fator letal e antígeno protetor.



Fonte: PAVAN *et al*, 2011.

O ciclo de antraz se dá inicialmente pela inalação ou ingestão de agentes presentes no solo e água, por animais herbívoros, no qual, devido ao contato próximo, acarreta na infecção de seres humanos. Quando o homem tem contágio por essa bactéria, a doença pode se desenvolver de três formas diferentes: cutânea, pulmonar e gastrointestinal. Recentemente, foi descrita uma quarta forma, a injetável que se apresentou de modo fatal. No organismo humano, possui uma alta capacidade de reprodução, retornando a sua forma bacteriana original. Os infectados não diagnosticados e não tratados podem evoluir para o óbito em 90% dos casos, em aproximadamente uma semana, em casos de contágio pulmonar (SCHATZMAYR; BARTH, 2013).

A infecção cutânea é a mais encontrada de modo natural, correspondendo a cerca de 95% dos casos. O esporo, devido a uma lesão pré-existente, é introduzido no organismo, que em questão de horas já resulta em uma coceira inicial. Após cinco dias incubados, o hospedeiro apresenta pápulas indolores, que podem evoluir para vesículas e, em seguida, para úlceras. A presença de pus só se dá a partir da contaminação secundária de *Staphylococcus aureus*. Úlcera com centro escuro surge de dois a seis dias após a infecção, e ao redor com edema, que em três semanas cai, com taxa alta de cura. Poucos são os

casos de contaminação cutânea com acompanhamento de febre, dores de cabeça e linfadenopatias, características de infecção sistêmica (CARDOSO; VIEIRA, 2015).

O contágio por vias pulmonares é o segundo mais comum, e é o mais visado como arma biológica, devido à sua alta taxa de mortalidade mesmo nos casos já tratados, sendo letal entre 90 a 100% dos casos. Com o período de incubação de dois a 43 dias, o esporo pode permanecer inativo por semanas, que podem ser afetados por alguns fatores como quimioprofilaxia e dose infectante. Esta forma apresenta progressão lenta, semelhantes à gripe entre os cinco primeiros dias de exposição, com presença de mal estar, alto estado febril, calafrios, dispnéia, cefaléia, anorexia, vômito, fraqueza muscular e dor torácica (LEVINSON, 2010).

As infecções por vias respiratórias podem ser agravadas para uma fase aguda, na qual o hospedeiro irá apresentar febre, dispnéia, diaforese, estertores úmidos, derrame pleural, choque e óbito, com metade dos casos com meningite, diversas vezes acompanhadas de hemorragia subaracnóidea. A meningite causada por *B. anthracis* é clinicamente inextinguível das demais causadas por agentes etiológicos diferentes (SWEENEY *et al*, 2011), em que os principais exames para distinguir são: exames quimiocitológicos, bacterioscopia direta, cultura, contra-imuneletroforese cruzada e aglutinação pelo látex (BRASIL, 2017).

A forma gastrointestinal é a mais rara dentre as demais, acometimento menor que 1%. Após o consumo de carnes cruas ou mal cozidas de animais infectados, o organismo fica completamente tomado pelo esporo, com um período de incubação de sete dias. Os sintomas são inespecíficos, pois podem ser causadas lesões ulcerativas em qualquer lugar do jejuno ao ceco, mas em paciente com sintomas gastrointestinais, com maior frequência podem apresentar: náuseas, vômitos, anorexia, dor abdominal intensa e diarreias, com evolução progressiva de dois a cinco dias para febre, ascite, hematêmese, aumento da circunferência abdominal, diarreia sanguinolenta aguda, choque, septicemia e óbito. Havendo um diagnóstico precoce o paciente poderá ter cura, mas devido a sua inespecificidade, isto se torna difícil (KONEMAN *et al*, 2014).

Os sintomas de antraz por injeção, no todo, é similar ao cutâneo, com diferença somente na capacidade de formação de abscessos nas camadas mais profundas da pele. Contudo, por acometer tecidos profundos, é disseminado pelo corpo de forma mais rápida e com difícil reconhecimento e tratamento. Este modo de contágio só foi relatado no norte da Europa em usuário de heroína injetável (CDC, 2016).

As formas de diagnóstico vão variar de acordo com a sua forma de infecção no hospedeiro, ou seja, quando cutâneo, utilizam-se métodos microbiológicos de Gram, com esfregaço da lesão, ou cultura em ágar sangue incubado em condições aeróbias, com

crescimento de colônias brancas acinzentadas, sem hemólise, grandes, com bordas irregulares, com texturas de vidro fosco (Figura 2). Podem ser visualizados bacilos, por meio da microscopia, com amostras dos carbúnculos, contudo, não é um diagnóstico preciso, se averigua a presença pela coloração de Gram, é uma ferramenta de auxílio. Outras metodologias que podem ser utilizadas são de biologia molecular, como a reação de polimerização em cadeia (PCR), que é descrita em literatura como a possibilidade de utilização como teste rápido em casos de atentados. Podem-se usar também testes sorológicos, como ELISA, para detecção de anticorpos, contudo requerem amostras em fases agudas e convalescentes, podendo usar somente como diagnóstico retrospectivo (GOEL, 2015).

**Figura 2:** Colônias de aspecto característico (vidro fosco) de *B. anthracis* em meio ágar sangue.



Fonte: GOEL, 2015.

Deve ser imediatamente notificado os casos suspeitos da doença, para investigação, por se tratar de uma doença grave com alto potencial bélico. Todos os indivíduos expostos aos materiais supostamente contaminados devem ser atendidos em uma unidade de referência, mesmo sem a confirmação laboratorial e início de sintomas, quando sintomática, deve-se investigar também a doença em todos os indivíduos expostos (BRASIL, 2005).

*B. anthracis* apresenta uma enorme propensão para uso como arma biológica, pois possui facilidade de dispersão em água, alimentos e até ar, seu tamanho pequeno e a ausência de sabor ou cheiro também auxiliam nesta propagação. Pode ser encontrado facilmente na natureza e produzido em laboratório, com uma resistência bem alta em meios adversos. A sua forma mais grave, que pode provocar pela doença, condiz com a possibilidade de uso em um armamento capaz de gerar aerossóis. Essa forma também é a de maior taxa da obtenção de mortalidade, o que é extremamente visado em um ataque

terrorista, além, da facilidade de dispersão dos esporos e dificuldade de tratamento. Desta forma, o ataque geraria uma enorme quantidade de pessoas contaminadas. Apesar de já haver uma descrição histórica de seu uso com esta finalidade, por conta da possibilidade das alterações que se podem fazer no agente, não se sabe ao certo quais seriam os impactos causados (SOBRAL, 2017).

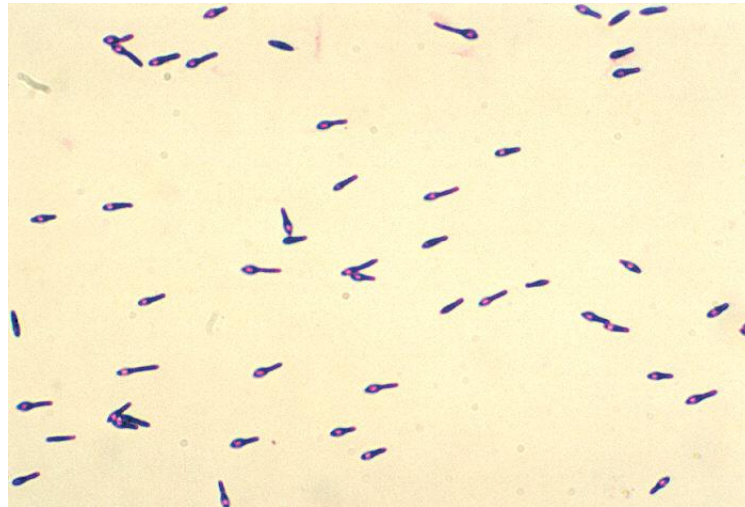
O teste de susceptibilidade deve ser feito para realizar o tratamento, porém, em geral, *B. anthracis* é resistente a cefalosporina de terceira geração e trimetoprim-sulfametoxazol, e suscetível à penicilina, fluoroquinolonas, ampicilina, eritromicina, claritomicina, doxiciclina, cloranfenicol, estreptomicina, cefalosporina de primeira geração, vancomicina, clindamicina e imipenem. A resistência antimicrobiana da cepa pode ser alterada para finalidade de armamento, o que pode não concordar com o tratamento comum, também pode se desenvolver resistência durante a terapia devido a uso errôneo ou inadequado. A terapia intravenosa, com múltiplas drogas, é recomendada para antraz cutâneo com sinais de envolvimento sistêmico e o uso de terapias tópicas não é eficaz. Para as outras formas da infecção, deve ser realizado uso de antibióticos por via intravenosa, com penicilina como primeira escolha (KAMMAL *et al*, 2011).

Devido ao risco em potencial como arma biológica, foi desenvolvida uma vacina, a partir de um filtrado purificado de cultura do *B. anthracis*, com a finalidade de prevenção deste patógeno. Contudo, com produção mundial é limitada e não disponível no Brasil. Atualmente, sendo disponíveis somente nos Estados Unidos e no Reino Unido, ambas as vacinas de subunidade acelular indefinidas, contendo principalmente o Antígeno Protetor, com uma quantidade menor de Fator Letal, e algumas outras proteínas. Há a necessidade de aplicação de cinco doses, sendo uma por ano e seguidas. Porém, sua duração e eficácia são desconhecidas e a vacina apresenta reações adversas como, dor local, vermelhidão, coceira e inchaço no local da aplicação (JIA *et al*, 2018).

### **3.2.2 *Clostridium botulinum***

O botulismo é uma doença fatal que geralmente resulta em neuromielose, devido à produção de toxinas, pelo *Clostridium botulinum*. Esta é uma bactéria Gram positiva anaeróbia formadora de esporos (Figura 3). Esses agentes são divididos em grupo I (proteolíticos) e II (não proteolíticos). A partir da subdivisão são analisadas a produção de tipos sorológicos diferentes de neurotoxinas, são sete denominadas de A a G, contudo, os sorotipos A, B, E e F são os mais relatados em surtos humanos, enquanto os C e D a animais (CARTER; PECK, 2015).

**Figura 3:** Gram de *Clostridium botulinum* do tipo A, demonstrando a Gram positividade da bactéria.



Fonte: SCHNEIDER; PARISH; GOODRICH, 2013.

A sintomatologia se dá por meio da liberação da neurotoxina que inibe a ação da acetilcolina (Figura 4) nas conexões neuromusculares dos neurônios e nas sinapses do sistema nervoso parassimpático. A subunidade B possui especificidade com os receptores, na placa motora, pré-sinápticos de acetilcolina (ACh), o que causa o bloqueio, não permitindo a liberação de ACh. Os sintomas clínicos surgem por volta de horas a dias, náuseas, vômitos, dor de estômago, diarreia, paralisia descendente simétrica, que pode causar a parada respiratória, a qual é responsável pela alta taxa de mortalidade, tendo em vista que a toxina não leva a destruição tecidual. Deste modo, tendo a necessidade de um diagnóstico precoce. A doença pode ser prevenida por cozimento e conservação adequada (BROLA *et al*, 2013).

**Figura 4:** Mecanismo de ação da neurotoxina, com bloqueio dos receptores devido à especificidade similar.



Fonte: NUNES, 2006.

Além do botulismo alimentar também são descritas outras três formas de transmissão, como, por exemplo, ferimentos, intestinal e infantil. A primeira é descrita como uma das mais raras, que necessita de uma lesão já presente, como úlceras crônicas com tecidos necróticos, fissuras, esmagamento de membros, ferimentos em áreas profundas mal vascularizadas, ou até por ferimentos causados por agulhas, em usuários de drogas injetáveis e, também, usuários de drogas inalatórias, por lesões nasais ou sinusais, com incubação média de sete dias. Os sintomas são semelhantes ao alimentar, porém com febre e sem acometimento gastrointestinal (SOBEL, 2005).

No tipo intestinal, os esporos, ao serem ingeridos, se fixam e multiplicam no intestino, onde irá ocorrer a produção e absorção das toxinas, algumas patologias pré-existentes são fatores de risco para o agravamento do quadro clínico, como cirurgias intestinais, Doença de Crohn e/ou uso de antibióticos por tempo prolongado, acarretando em alterações na microbiota normal intestinal. Esta forma apresenta um período de incubação indeterminado, sem estudos que permitam designar o tempo, pois é impossível saber o momento da ingestão dos esporos (BIANCO *et al*, 2009).

A categoria da doença, denominada infantil, na verdade é um tipo intestinal, com frequência maior em idades entre três e 26 semanas, com maior acometimento em pacientes que consumiram mel de abelha. Os quadros, de crianças, podem variar de constipação leve à síndrome de morte súbita, há casos que podem ser leves, com fraqueza muscular e dificuldade de se alimentar, e casos mais graves, como irritabilidade e constipação, que pode evoluir para dificuldade de controle motor, tais como, movimentos da cabeça e fraca sucção, a presença do choro fraco é um importante sintoma, a qual se deve levar em consideração (ARRIGADA; WILHELM; DONOSO, 2009).

O diagnóstico consiste em identificação da toxina botulínica, em amostras de sangue, fezes e lavado gástrico, e bromatologia, das sobras de alimentos suspeitos. A técnica usada, atualmente, como padrão ouro é a pesquisa da toxina, e quando se trata de transmissão intestinal ou por ferimentos, o isolamento de *Clostridium botulinum* pode ser feito por meio do uso de culturas de amostras de fezes ou de tecidos desbridados. Um exame de importância diagnóstica é o eletroneuromiografia, que avalia o comprometimento da membrana pré-sináptica na junção neuromuscular, é importante para os casos que não foram realizados testes laboratoriais. A suspeita da enfermidade deve ser imediatamente notificada a um centro de vigilância epidemiológica, pois é considerada uma emergência para a saúde pública, devido à possibilidade de disseminação, principalmente pelas formas alimentares (BRASIL, 2011).

Apesar da ausência de descrição de uso no bioterrorismo é um dos microrganismos mais temidos, devido aos efeitos que sua toxina pode causar no corpo humano, podendo

ser de uso duplo, como potencial bélico tanto para o uso do agente, quanto da toxina. Contudo sua dispersão não é tão fácil como de outros agentes, pois a toxina é instável, não sendo favorável para uso em aerossóis, somente em alimentos e água. Porém, isso não minimiza seu potencial de uso, pois há necessidade de se utilizar uma pequena quantidade para desencadear a infecção. Esse fato torna essa bactéria extremamente interessante devido à sua alta taxa de mortalidade, fácil produção e transporte, e a necessidade intensiva de cuidado. Entretanto, quando se trata da utilização do próprio agente, a capacidade de ser utilizado em forma de aerossóis contendo esporos se faz possível, tendo em vista que irá manter sua virulência e sua viabilidade, contudo o desempenho quanto seu potencial letal será reduzido, pois depende da capacidade de infectar o hospedeiro para assim induzir a produção de toxina (SOBRAL, 2017).

O tratamento visa a eliminação da toxina e da sua fonte de produção, ou seja, o próprio patógeno, com a administração de soros antitoxinotécnicos (SAB) e antibiótico. Contudo, o SAB só apresenta efeito em toxinas em que não houve fixação tecidual no sistema nervoso, demonstrando eficácia somente de modo precoce. O SAB é produzido a partir de soro equino, podendo ser na forma bivalente ou tetravalente, atuando respectivamente contra os sorotipos A e B ou A, B e E da toxina. A antitoxina apresenta de 9 a 20% de risco de reação de hipersensibilidade, devido a isto, realiza-se, antes da aplicação, uso de hidrocortisona por via endovenosa. Em casos de botulismo cutâneo deve-se utilizar a penicilina cristalizada e/ou metronidazol com a finalidade de se realizar o tratamento, atentando ao fato de que tratamentos tópicos não se fazem eficazes. Já em casos de botulismo intestinal, o uso da antibioticoterapia não é indicado, pois a lise das bactérias no trato gastrointestinal pode acarretar em uma piora do quadro do paciente. E no botulismo alimentar, ainda não se tem definido a indicação de antibióticos (BRASIL, 2006).

### **3.2.3 *Yersinia pestis***

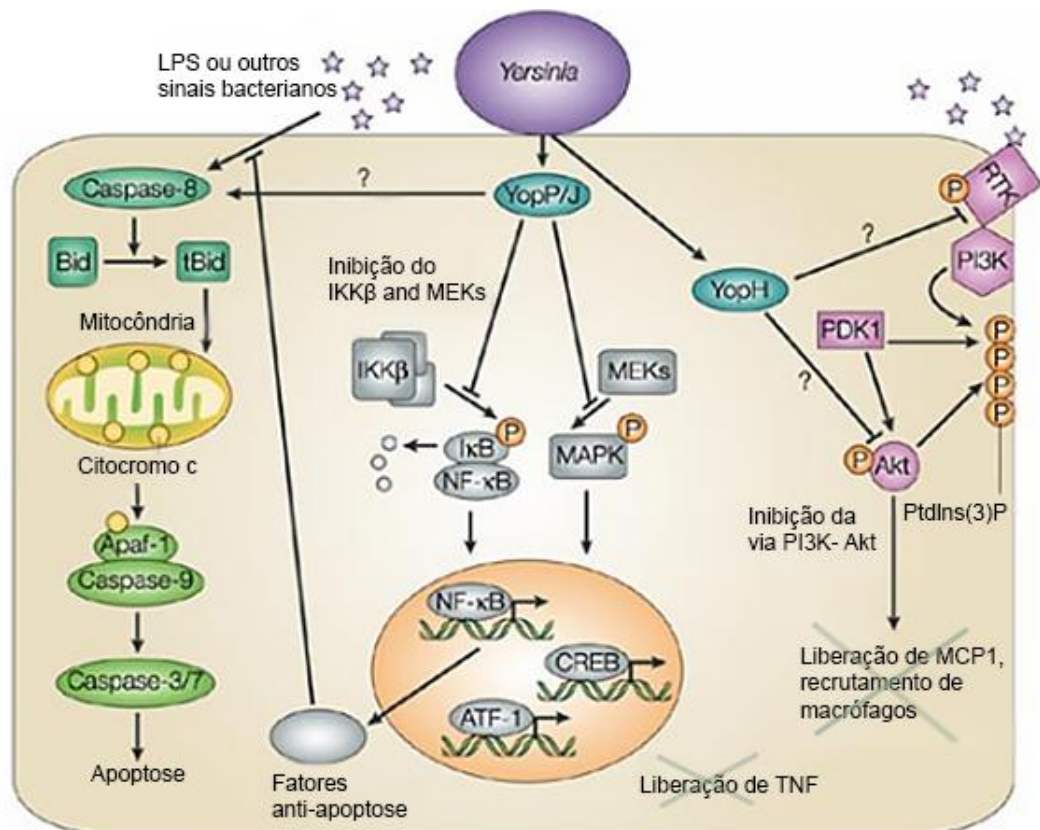
A peste, popularmente conhecida como peste negra ou doença do rato, é uma doença infecciosa aguda, causada pelo bacilo Gram negativo *Yersinia pestis*. Essa bactéria é transmitida a partir da picada de uma primeira pulga, já contaminada, para um roedor, e disseminada para outra pulga ao entrar em contato com o sangue do roedor infectado. Ao adentrar o organismo humano, ou de mamíferos, encaminham-se para os linfonodos locais, tornando-os intumescidos e sensíveis, que são denominados de bubões, o que deu origem ao nome peste bubônica (SAAVEDRA; DIAS, 2011).

O microrganismo apresenta vários fatores para sua virulência, tais como produção de endotoxinas e exotoxinas, proteínas de antígeno V e W, que permitem sobrevida



intracelular, antígeno capsular que devido a temperatura de 37°C, é capaz de produzir rapidamente uma proteína, composta em sua cápsula, de polímeros de proteína fração 1 do antígeno capsular (Caf1), impedindo a interação adesina-receptor, adquirindo uma proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro. É um dos fatores que mais contribui para sua patogenicidade, *Yersinia outer proteins* (Yops), que é responsável pela inibição da fagocitose e produção de citocinas pelos macrófagos e neutrófilos como, por exemplo, a YopJ (Figura 5) cliva duas proteína de vias de transdução de sinal necessárias para a indução da síntese do fator de necrose tumoral, o que inibe a ativação da defesa do corpo, permitindo uma replicação no organismo (AL-JAWDAH *et al*, 2019).

**Figura 5:** Ação do mecanismo da YopJ no interior da células e seus efeitos inibitórios.



Fonte: CORNELIS, 2002.

Inicialmente os microrganismos se multiplicam no local inicial onde foram introduzidos, em consequência podem ocorrer três formas clínicas da peste humana: Bubônica, Pneumônica e Septicêmica. A bubônica possui um período de incubação de uma semana, com disseminação para os linfonodos regionais, um sinal precoce desta infecção consiste no surgimento de grandes tumefações dolorosas, com súbito aparecimento de febre, calafrios e cefaléia, os pacientes podem apresentar letargia, agitação e prostração,



sendo esta uma das formas mais leves da doença, porém, dentre os casos não tratados, apresentar uma taxa de 75 % de mortalidade (KONEMAN, 2014).

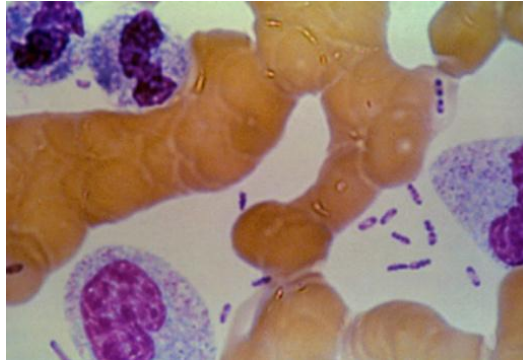
A forma pneumônica é, em sua maioria, secundária ao processo bubônico, contudo, também pode ser resultado de uma exposição direta a gotículas contaminantes de saliva de outros pacientes. O período de incubação é menor, com apenas dois a três dias, devido à facilidade de dispersão, com início febril e mal estar, que evolui para tosse com dores torácicas e hemoptise, com escarro purulento. Essa forma da doença pode evoluir rapidamente para uma sepse e para óbito, se não tratada rapidamente, sem o tratamento possui taxa de mortalidade de 90% (PRICE; JIN; GOLDMAN, 2012).

Quando é feita a forma septicêmica não há reações visíveis dos linfonodos, é decorrente da infecção direta na corrente sanguínea, porém podem ser subsequentes às anteriores. Apresente início abrupto de febre alta, dispnéia, convulsões em crianças, delírios, coagulação intravascular disseminada, choque séptico e hemorragias cutâneas o que originou o nome de “morte negra”, devido ao aparecimento das manchas na pele. Em sua maioria, aparece na fase terminal, em casos não tratados, na qual a hemocultura apresenta-se positiva em 100% dos casos (GONZALEZ; MILLER, 2016).

Para realizar o diagnóstico é necessário avaliar critérios clínicos e epidemiológicos, os casos suspeitos devem ser imediatamente notificados ao sistema de saúde pública e colocados em isolamento, a fim de se evitar uma maior propagação devido à alta capacidade de disseminação. O diagnóstico depende da qualidade da amostra, pois, quando se trata de infecções de trato respiratório, a produção de muco dificulta a visualização e a seleção de uma amostra de qualidade, fazendo-se necessária coleta de secreções profundas. O ideal é diagnosticar durante a fase de invasão, antes do aparecimento dos sintomas graves, mas a produção de muco se faz escassa nesta fase da doença (ALMEIDA *et al*, 2007).

O teste rápido, para detecção do Caf1, é realizado em apenas 15 minutos, porém seu desempenho é afetado pela qualidade da amostra. Podem ser realizados esfregaços de material advindo dos bubões com coloração de Giemsa ou Wright (Figura 6), sorologias e culturas (Figura 7). Alguns testes de biologia molecular foram desenvolvidos para reduzir o atraso do diagnóstico (Figura 8) e diminuir os falsos positivos e falsos negativos, devido à sua alta sensibilidade. O método que ainda é dado como padrão ouro é a cultura em meio ágar seletivo suplementado em cefsulodina-irgasano-novabiocina (CIN), apesar de se ter o crescimento em meios usuais, o seletivo favorece o isolamento da bactéria (DEMEURE *et al*, 2019).

**Figura 6:** Esfregaço de sangue periférico corado com Wright demonstrado o aspecto de “alfinete de segurança”.



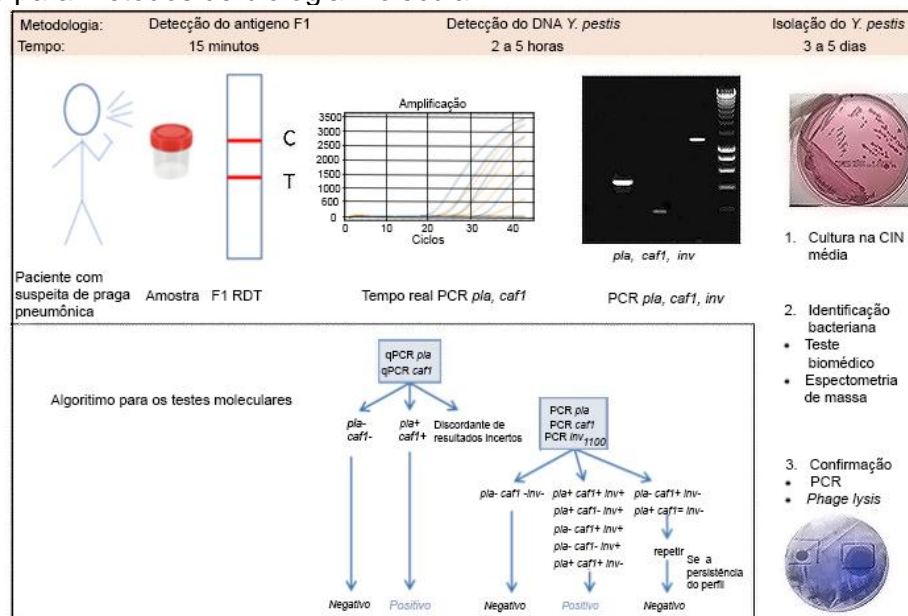
Fonte: KONEMAN, 2014.

**Figura 7:** Colônias de *Y. pestis* em meio ágar Sangue com morfologia de “ovo frito” irregular, elevada, de coloração branco-acinzentado.



Fonte: KONEMAN, 2014.

**Figura 8:** Comparação do tempo de cada teste, seus alvos moleculares e fluxo de diagnóstico para métodos de biologia molecular.



Fonte: DEMEURE *et al* , 2019.

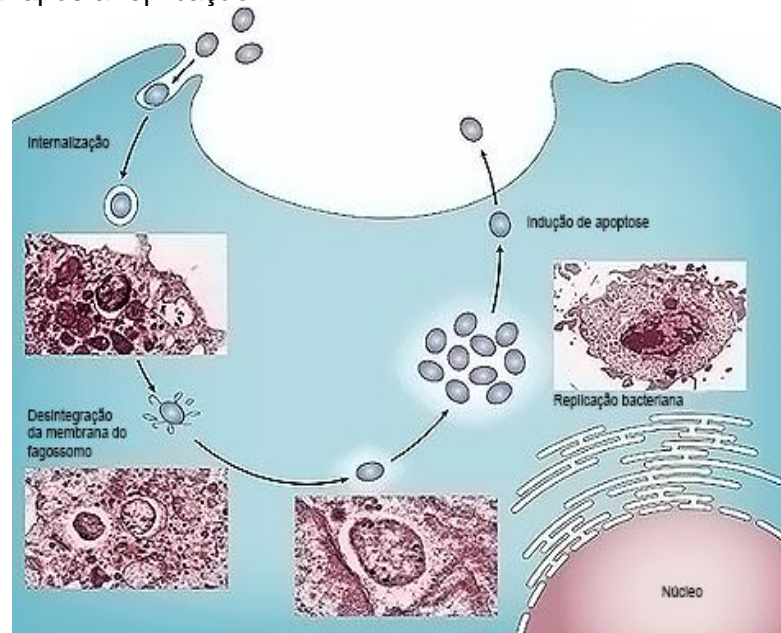
Atualmente, *Y. pestis* pode ser utilizada como possível arma biológica devido à sua facilidade de modificação genética para se tornar mais patogênica e resistente, a alta capacidade reprodutiva da bactéria faz com que se possa realizar uma rápida reprodução em grande quantidade. A utilização em aerossóis para o acometimento da forma pneumônica é o ato terrorista mais provável se ser realizado, pois a disseminação de pessoa para pessoa aumenta a propagação, resultando em um maior acometimento da população, e por esta forma infectiva não surgir o bulcão, seu diagnóstico se faz mais tardiamente, além de apresentar uma maior letalidade, possibilitaria alcançar o objetivo do ataque. Um ponto marcante para auxiliar a detectar o ato terrorista, se dá pelo fato de que a presença da doença em ambientes rurais é mais comum do que em urbanos, por conta dos fatores de riscos (SOBRAL, 2017).

O tratamento deve ser realizado o mais precocemente possível, devido à rapidez da evolução do quadro do paciente, visando combater a proliferação bacteriana no organismo e a superação da toxemia. Os antibióticos de primeira escolha são os aminoglicosídeos, tetraciclina, cloranfenicol, sulfonamidas e fluoroquinolonas. Já os betalactâmicos, macrolídeos e azalídeos são contra indicados, pois podem levar a evolução do quadro clínico do paciente, tanto seu uso na quimioprofilaxia quanto no tratamento. Antes da administração do medicamento, a coleta para diagnóstico deve ser realizada para não interferir no cultivo, pois, apesar de se ter descrito na literatura os tipos de antibióticos indicados, no bioterrorismo podem ser usadas cepas naturalmente resistentes ou alteradas para que se tenha a resistência. Podem ser feitos procedimentos para auxiliar a aliviar os sintomas, como o uso de heparina para conter as hemorragias profusas (BRASIL, 2008).

### **3.2.4 *Francisella tularensis***

O agente causador da tularemia, *Francisella tularensis*, é um cocobacilo Gram negativo curto, intracelular e pleomórfico, apresenta um único tipo sorológico, mas com dois biótipos diferentes: A e B, sendo o primeiro o mais virulento. Em alguns lugares, como nos Estados Unidos, é endêmico em animais, como coelhos, veados e alguns roedores, que são transmitidos por meio de vetores como carrapatos, ácaros e piolhos. Raros são os casos de infecção por alimentos contaminados ou inalação, e não são capazes de disseminar por meio de contato direto de pessoa para pessoa. O principal fator de virulência consiste na capacidade de adentrar macrófagos (Figura 9), hepatócitos e outras células reticuloendoteliais (SUZUKI *et al*, 2016).

**Figura 9:** Introdução da *Francisella tularensis* no interior do macrófago, induzindo a apoptose celular após a replicação.



Fonte: OYSTON; SJOSTEDT; TITBALL, 2004.

A sintomatologia depende da forma como ocorreu o contágio do agente, da virulência inata da cepa e da capacidade imunológica do hospedeiro. Subsequente à infecção, o paciente pode apresentar entre dois e três dias, os sintomas de início agudo são: febre, mal estar, cefaléia, calafrios, diarreia e faringite, os períodos de febre podem ter remissões ou exacerbações, durante este tempo podem ocorrer linfadenopatias e doença crônica. Quando se tem uma inoculação cutânea, há uma típica produção de tularemia ulceroglandular, a qual é caracterizada por uma úlcera e linfadenopatia dolorosa, menos comumente, pode-se ter uma tularemia glandular, sem o desenvolvimento da ulceração (NELSON *et al*, 2013).

A tularemia tifóide, apesar de ser menos comum, pode ser responsável por até 30% dos casos, e com manifestações singulares de diarreia aquosa, sem presença de sangue, embora, possa haver necrose intestinal focal com sangue, observado em crianças. Outras formas menos comuns da doença, são as formas oculoglandular, caracterizada por uma conjuntivite granulomatosa grave, e orofaríngea, com amigdalite bilateral e faringite exsudativa (PORTUGAL, 2015).

Se porventura, a forma de inoculação for respiratória, a taxa de mortalidade atinge até 30%, se não tratada, está sendo considerada uma das formas mais graves da doença. Pode ser resultante de agravamento de todas as outras formas, o quadro se inicia com tosse sem produção mínima de muco, febre e dor torácica, sintomas aos quais podem ser confundidos com tuberculose. Devido à sua capacidade de infectar o hospedeiro com uma

quantidade mínima do patógeno, esta forma acaba por se tornar a mais visada para ataques biológicos (RANJBAR; BEHZADI; MAMMINA, 2016).

Por conta da ameaça em potencial, o uso de técnicas de diagnóstico necessita ser rápido, preciso e confiável, pois a precisão depende do tratamento eficaz e à contenção do agente. Contudo, a cultura não apresenta resultados ágeis, são utilizados ágar sangue ou Thayer-Martin, e outras metodologias são utilizadas como PCR, E-test, estudos utilizam de microarray como melhor teste, porém, os mais comuns são sorológicos, pois todas as classes de anticorpos aparecem simultaneamente, o que não é indicado para históricos progressos de infecção ou vacinação, o que pode invalidar o teste, tendo em vista que haverá positividade dos anticorpos. O exame, até o dado momento mais sensível, descrito, é o teste de microaglutinação, detectando anticorpos antes mesmo do que o exame de aglutinação em tubo. Conjuntamente com a importância diagnóstica, a notificação de casos suspeitos deve ser rapidamente notificada, com a finalidade da investigação do caso (NAKJIMA *et al*, 2016).

Como potencial arma biológica, a forma mais provável de propagação é na forma de aerossol, por conta de suas características patogênicas. Apesar de ser descrita como uma das formas mais raras em um ataque, sua escolha está justificada por conta dos graves sintomas da forma pneumônica, que possui alta taxa de mortalidade mesmo nos casos tratados e pode levar a sepse. Outro fator que fundamenta sua seleção é a necessidade de pouca quantidade para causar a doença, bastam de 10 a 50 microrganismos para causar a tularemia em aerossóis (SOBRAL, 2017).

Os dois principais medicamentos de tratamento são estreptomicina e gentamicina, podendo usar também tetraciclina e cloranfenicol, contudo sendo menos eficientes apresentando uma quantidade maior de casos de remissão da doença. Deve ser realizada uma coleta antes da antibioticoterapia, um cultivo para antibiograma, pois, apesar das formas de tratamentos serem, de certo modo, simples e fácil, ao utilizarem o patógeno como arma pode ser que a alteração realizada para aumentar a patogenicidade seja a resistência a antibiótico, diminuindo a chance de cura da doença por meios convencionais (CARVALHO; MORAIS, 2009).

### **3.3 Classificação dos agentes com potencial de uso**

Para o planejamento e elaboração de um ataque biológico, alguns parâmetros são necessários, como a obtenção de um patógeno ou toxina que ao ser multiplicado mantenha seus atributos de virulência e a viabilidade, contando com fatores de alcance humano de acordo com as quantidades para infecção. Alguns critérios a serem considerados são a alta

mortalidade e o potencial letal, a toxicidade, a adequação para produção em massa e o armazenamento, a adequação para a metodologia destinada, a estabilidade no ambiente após a disseminação, e a capacidade de aprimoramento pelos métodos moleculares de engenharia genética. Além de planejar a metodologia de disseminação, seja em água, alimentos ou aerossóis. Também se deve selecionar o agente que melhor se adequa aos pré-requisitos, em que pelos critérios da CDC podem ser classificados em A, B e C. (JANSEN *et al*, 2014).

Na classe A, estão inclusos os que têm uma maior capacidade de disseminação de pessoas para pessoa, desta forma sendo visto como os mais perigosos, *Bacillus anthracis*, toxina de *Clostridium botulinum*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Variola major* e febres hemorrágicas virais (CDC, 2017).

Os organismos de categoria B, são fáceis de disseminar, tem taxas moderadas de morbidade e baixas de mortalidade, são eles: *Brucella sp.*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetti*, *Rickettsia prowazekii*, *Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium parvum*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, encefalites virais, enterotoxinas estafilocócicas B e toxina de *Ricinus communis* (ROZSA, 2014).

Já os da classificação C, possuem maior disponibilidade, facilidade de produção e potencial para alta morbidade, estando inclusos patógenos com disseminação futura em massa, sendo emergentes, tais como, hantavírus, febre amarela e vírus Nipah (ANDERSON; BOKOR, 2012).

Além da classificação do CDC existem outras classificações (Quadro 1) como, por exemplo, quanto ao alvo que se pretende atingir, determinada pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária, podendo ser anti-pessoal, anti-material, anti-animal e anti-planta. Quando enquadrados como anti-pessoal, são agentes que de forma direta atuam sob o homem, para causar sua morte ou incapacidade, estão inclusos a varíola, peste e antraz. Se for com a finalidade de afetar de modo indireto o homem, podem ser agentes anti-animal, na qual, atuam sobre animais domésticos ou de criação, são exemplos, a febre aftosa e o antraz. Contudo, se o intuito é gerar prejuízo econômico ou fome, são usados agentes anti-planta, em que serão usados diretamente em plantações, nesse são utilizados microrganismos causadores da ferrugem da soja e fusário do milho, por exemplo. E quando se pretende causar graves danos ou destruir componentes específicos como eletrônicos, estruturais ou alimentos, utilizam agentes anti-materiais, por exemplo, bactérias metabolizadoras de hidrocarboneto para destruição de pistas ou oxidação de estruturas (SANTAROSSA, 2015).

Nos EUA, o Departamento de Saúde e Serviços Humanos juntamente com o Departamento de Agricultura declararam três categorias, chamada de Agentes Seletivos

Biológicos ou Toxinas, em que se encontram microrganismos que possuem um potencial de representar uma séria ameaça a saúde e segurança. A primeira categoria são aqueles que afetam apenas os seres humanos, já a segunda, são aqueles que afetam apenas animais ou culturas, por fim a terceira, são aqueles que se sobrepõem e afetam ambos (CDC, 2019).

**Quadro 1:** Classificação de *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia pestis* e *Francisella tularensis* nas categorias descritas.

Agente	Gram	Classificação CDC	Classificação de agentes	Agentes seletivos biológicos ou toxinas
<i>Bacillus anthracis</i>	Bacilos Gram positivos aeróbios de formadores esporos	Classe A	Anti-pessoal Anti-animal	Categoria III
<i>Clostridium botulinum</i>	Bacilos Gram positivos anaeróbios de formadores esporos	Classe A	Anti-pessoal	Categoria I
<i>Yersinia pestis</i>	Bacilos Gram negativos	Classe A	Anti-pessoal	Categoria I
<i>Francisella tularensis</i>	Cocobacilos Gram negativos exigentes	Classe A	Anti- animal Anti-pessoal	Categoria III

Fonte: Próprio do autor, 2019.

O conhecimento sobre as classificações e os agentes são muito importantes para determinar se o possível ataque tem como finalidade o homem, animais, plantas ou estruturas, e, por consequência, as medidas a serem tomadas. O indivíduo que possui este conhecimento e sabe o setor de fragilidade econômico de um país pode gerar graves prejuízos, pois por mais que os ataques possam ser realizados a setores diferentes, todos irão acarretar em um déficit econômico. Por tanto, o conhecimento dos profissionais é de suma importância para uma rápida resposta e classificação, para evitar o agravamento do ataque, o que também pode ajudar a uma maior proteção aos setores mais fragilizados (SOBRAL, 2017).

### 3.3 Os principais meios de detecção e testes rápidos

Apesar dos avanços tecnológicos, ainda continua a ocorrer surtos sem explicações, o que apresenta uma maior possibilidade de ser causado do modo intencional, pois patógenos resultantes de bioengenharia podem ter características inesperadas, o que pode dificultar a identificação por meio dos ensaios existentes. Quando se trata do bioterrorismo a detecção é crucial, e para que isso ocorra é primordial o conhecimento, dos profissionais de saúde, sobre os agentes de possíveis usos em um ataque. A limitação dos efeitos posteriores depende da rapidez da resposta. Sendo papel do laboratório ajudar a levantar a suspeita de um possível ato de terrorismo biológico, necessitando estar preparado para reconhecer e responder a evento deste nível, também cabe ao demais profissionais de saúde, como os provedores de cuidados primários a saúde notificarem (THOMPSON *et al*, 2018).

Para o diagnóstico e detecção existem vários testes comerciais disponíveis usando procedimentos imunológicos de ácido nucleicos e de bioluminescência, e bioquímicos, que possibilitam a identificação dos agentes de ameaça biológica. Atualmente, como padrão ouro, para o diagnóstico de *B. anthracis* se utiliza a cultura em meio ágar sangue, para *C. botulinum* realiza a pesquisa da toxina, já para *F. tularensis* a cultura é semeada em meio ágar CIN, e para *Y. pestis* é feita a sorologia. Contudo o tempo de espera destes exames pode não ser efetivo para responder a um ataque, devido a isto foram desenvolvidos novos testes usando biochips, biossensores, entre outras tecnologias para diminuir o tempo de espera dos resultados (PINTO, 2013).

O desenvolvimento de novas formas de diagnóstico é importante para aproveitamento do tempo, como, por exemplo, uma cultura de *Y. pestis* demora cerca de duas a cinco horas, mas com o teste de detecção de antígenos F1, o teste possibilitou o diagnóstico em apenas 15 minutos. Outra ferramenta em desenvolvimento é o uso de microarrays para isolar simultaneamente *Y. pestis* e *B. anthracis*, que por meio de sonda é possível, com alta sensibilidade, determinar as cepas testadas (GOJI; MACMILAN; AMOAKO, 2012).

Já para o *C. botulinum* a pesquisa da toxina se faz como um dos métodos mais eficazes, tendo em vista que a toxina quando exposta não gera resposta imunitária, portanto não produz anticorpos e, o mesmo se dá para o semeio para culturas, não havendo crescimento por não se tratar da bactéria em si (SOBRAL, 2017). Outro agente que também tem como padrão ouro a metodologia mais eficaz é a *F. tularensis*, que apesar de apresentar uma enorme gama de possibilidades para diagnóstico, tais como, biochips, biossensor, espectrometria de massa, métodos bioquímicos e também de biologia



molecular, como, tipificação de sequência multilocus (MLST), inserções-deleções canônicas (INDELs) e também eletroforese em gel de campo pulsado e PCR (LAI *et al*, 2014).

Porém, para os devidos cuidados de manejo, são necessários laboratórios adequados que são classificados em níveis de biossegurança (NB) de um a quatro. O NB-1 é um nível básico de contenção, onde são manipulados agentes de risco 1 ou baixo. Os NB-2 são usados agentes de risco 2 ou baixo e médio, também sendo de nível mais simples. Já os NB-3 são manejados agente de risco 3 ou moderados. E os NB-4 são os mais complexos, abrangendo agentes de risco 4, que assim como NB-3, necessitam de acesso restrito e com equipamento de proteção individual mais rígidos e específicos (SANGIONI, 2013). Para lidar com um ataque terrorista biológico, o nível mínimo laboratorial exigido necessário é o NB-3, devido a proteção dos profissionais e aos equipamentos utilizados para evitar propagação, permitindo um manejo seguro (CRAFT; LEE; ROWLINSON; 2014).

Contudo, os sistemas de vigilância sanitária devem atuar juntamente com os laboratórios para permitir uma detecção precoce do bioterrorismo, portanto melhorar esses serviços auxilia a encurtar o tempo de resposta, isso pode ser feito por meio de comunicação das equipes de saúde, prestadores de serviços e comunidade (ASHFORD *et al*, 2003). Outros fatores indispensáveis envolvem fortificar esses sistemas em relação a algumas características das armas biológicas, como, por exemplo, novos agentes patogênicos, a possibilidade de uma ação retardada significativa e a escolha de grupos alvos. Possuindo esses conhecimentos, uma vez que, seja realizada a detecção do agente biológico, basta saber a origem, caso deliberado, natural ou acidental (SHAPIRO, 2003).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados levantados pelo presente estudo, é possível determinar que devido às características dos agentes bacterianos e sua facilidade de acesso, o potencial armamento bélico se faz de grande preocupação, demonstrando que o conhecimento prévio sobre sua virulência, patogenicidade e o impacto no hospedeiro é fundamental para o diagnóstico eficaz. Apesar das formas tradicionais em que se apresentam no hospedeiro, quando se trata de um agente manipulado por bioengenharia a sintomatologia pode se apresentar de outras maneiras, mas o domínio sobre os sinais e sintomas característicos permite a suspeita, pelo profissional de saúde, da infecção, podendo auxiliar na identificação.

As tecnologias disponíveis para a identificação de microrganismos podem ser eficazes em alguns casos, como para *Francisella tularensis* e *Clostridium botulinum*, porém a necessidade da diminuição do tempo para isolamento é um fator importante, sendo exemplo *Bacillus anthracis* e *Yersinia pestis*. O estudo e aprimoramento de técnicas

microbiológicas moleculares e de manipulação genética também se elevaram, em contrapartida há variedade de desafios não atendidos para o desenvolvimento de abordagens e contramedidas diagnósticas e terapêuticas eficazes. E quando se trata de novas doenças, o desafio é a pesquisa e confirmação, sendo necessário averiguar a explicação do surgimento.

As ameaças de um ataque biológico não devem ser desconsideradas, pois a constante evolução de tecnologias facilita a manipulação dos agentes, mantendo elevada a possibilidade de uso, patógenos bacterianos, como armamento bélico. E devido ao fato da descrição do emprego de microrganismos em armas, acompanharem a história humana, a probabilidade de uso deve ser mensurada, uma vez que são agentes de fácil acesso.

Contudo, foi possível analisar que o conhecimento prévio sobre os microrganismos é um fator que auxilia a uma resposta. O reconhecimento do alvo do ataque é determinante para uma rápida ação, averiguando suas classificações para assim conter os efeitos e a propagação, reduzindo os possíveis impactos. Por tanto, foi possível concluir que a prevenção é a melhor forma de resposta, além de testes qualificados e rápidos.

## 5. REFERÊNCIAS

AL-JAWDAH, A. D. *et al.* Induction of the immunoprotective coat of *Yersinia pestis* at body temperature is mediated by the Caf1R transcription factor. **BioMed Central Microbiology**, London, v. 19, n. 68, p. 1-12, mar. 2019.

ALMEIDA, A. M. P. *et al.* Contribuição para o diagnóstico de peste. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Maceió, v. 40, n. 1, p. 53-55, jan. 2007.

ALMEIDA, M. E. Guerra e desenvolvimento biológico: o caso da biotecnologia e da genômica na segunda metade do século XX. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3, p. 264- 82, set. 2006.

ANDERSON, P. D.; BOKO, G. Bioterrorism: Pathogens as Weapons. **Journal of Pharmacy Practice**, Thousand Oaks, v. 25, n. 5, p. 521-529, set. 2012.

APPEL, J.M. Is all fair in biological warfare? The controversy over genetically engineered biological weapons. **Global medical ethics**, New York, v. 35, n. 7, p. 429 – 432, jun. 2009.

ARRIGADA, S.D.; WILHELM, B. J.; DONOSO, F. A. Infant botulismo: case report and review. **Revista Chilena de Infectologia**, Santiago, v. 26,n. 2, p. 162-167, abr. 2009.

ASHFORD, D. A. *et al.* Planning against Biological Terrorism: Lessons from Outbreack Investigations. **Emerging Intectious Diseases**, Atlanta, v. 9, n. 5, p. 515-519, maio, 2003.

BARBOSA, A. F. **Uso de microrganismos e/ou toxinas com potencial de uso como arma biológica**. 2016. 37 f. Trabalho de conclusão de curso – Centro universitário de Brasília, 2016.

BIANCO, M. I. *et al.* Flor de *tília* (*Tília* spp.) como potencial veículo de esporos de *Clostridium botulinum* na transmissão de botulismo infantil. **Revista argentina de microbiologia**, Buenos Aires, v. 41, n. 4, p. 232-236, dec. 2009.

BRAGA, G. C. S. **Bioterrorismo: Proposta de um plano de contingência hospitalar, a implementar face a um ameaça**. 2011. 128 f. Tese de Mestrado- Universidade de Porto, Porto Seguro, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Guia de vigilância epidemiológica**. Ed. 6. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério d Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual Integrado de Vigilância Epidemiológica do Botulismo**. Ed. 1. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Peste**. Ed. 1. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. ***Clostridium botulinum/ botulismo***. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológico, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Plano de Contingência para Emergência em Saúde Pública por Agentes Químico, Biológico, RADIOLÓGICO E Nuclear**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica: meningites**. Caderno 12. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BROLA, W. *et al.* Food-borne botulismo: still actual topic. **BMJ case reports**, London, v. 2013 , fev. 2013.

CALDAS, M. M.; PERZ, S. “Agro-terrorism?” The cause and consequences of appearance of witch’s broom disease in cocoa plantations of Southern Bahia, Brazil. **Geoforum**, Oxford, v. 47, n. 2013, p. 147-157, fev. 2013.

CARDOSO, D. R.; CARDOSO, T. A. O. Bioterrorismo: dados de uma história recente de riscos e incertezas. **Ciência & saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, supl. 1, p. 821-830, Dec. 2011. Rio de Janeiro, v.40, n. 107, p. 1138-1148, out. 2015.

CARDOSO, T. A. O.; VIERA, D. N. *Bacillus anthracis* como ameaça terrorista. **Saúde debate**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 107, p. 1138-1148, out. 2015.

CARTER, A. T.; PECK, M. W. Genomes, neurotoxins e biology do *Clostridium botulinum* Group I and Group II. **Research in Microbiology**, Colney, v. 166, n. 4, p. 303-317, jun. 2015.

CARVALHO, I. L.; MORAIS, J. D. Tularemia. **Acta Médica Portuguesa**, Coimbra, v. 22, n. 3, p 281-290, dez. 2008.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Electronic Code of Federal Regulations**. Title 42: Public Health, Chapter I, Subchapter F, Part 73, jun. 2019. Disponível em: <<https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SID=8a4be60456973b5ec6bef5dfeaffd49a&r=PART&n=42y1.0.1.6.61>>. Acesso em: junho 2019.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Guia para compreender o Antraz**. 2016 Disponível em: <<https://www.cdc.gov/anthrax/pdf/evergreen-pdfs/anthrax-evergreen-content-portuguese-508.pdf>>.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Enterainment Educacion, **Bioterrorism agentes/ Diseases**, Atlanta, 2017. Disponível em: <<https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

CORNELIS, G. R. The *Yersinia* Ysc-Yop 'Type III' weaponry. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, London, v. 932, n.3, p. 742-754, oct. 2002.

CRAFT, D. W.; LEE, P. A.; ROWLINSON, M. C. Bioterrorism: a Laboratory Who Does It?. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 52, n. 7, p.2290- 2298, Mar/Jul. 2014.

DEMEURE, C. E. *et al.* *Yersinia pestis* and plague: na updated view on evolution, virulence determinants, imune subversion, vaccination, and diagnostics. **Genes e Immunity**, Basingstoke, v. 2019, abril 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41435-019-0065-0>>.

ERENLER, A. K.; GÜZEL, M.; BAYDIN, A. How prepared are we for possible bioterrorist attacks: an approach from emergency medicine perspective. **The Scientific world journal**, London, v. 2018, jun. 2018.

GOEL, K. Anthrax: a disease of biowarfare and public health importance. **World Journal of Clinical Cases**, Gwalior, v. 3, n. 1, p. 20-33, jan. 2015.

GOJI, N.; MACMILAN, T.; AMOAKO, K. K. A new generation microarray for the simultaneous detection and identification of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis* in food. **Journal of Pathogens**, Cairo, v. 2012, n. 627036, p. 384-389, out. 2012.

GONZALEZ, R. J.; MILLER, V. A deadly path: Bacterial Spread During Bubonic Plague. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 24, n. 4, p. 239-241, fev. 2016.

JANIK, E. *et al.* Biological toxins as the potential tools for bioterrorism. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 20, n. 5, p.1181- 1189, mar. 2019.

JANSEN, H. J. *et al.* Biological warfare, bioterrorism, and biocrime. **Clinical Microbiology and Infection**, London, v. 20, n. 6, p. 488-496, jun. 2014.

JIA, Q. *et al.* Single vector platform vaccine protects against lethal respiratory challenge with Tier 1 select agents of anthrax, plague, and tularemia. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 2018, p. 7009-7012, maio, 2018.

KAMMAL, S.M. *et al.* Anthrax: an update. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Singapore, v.1, n. 6, p. 496-501, dez. 2011.

LAI, X. H. *et al.* Rapid identification and characterization of *Francisella* by Molecular Biology and other techniques. **The Open Microbiology Journal**, Sharjah, v. 2016, n. 10, p. 64-77, abr. 2014.

MINAYO, M. C. S.; CAVALCANTE, F. G. Suicídio entre pessoas idosas: uma revisão da literatura. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 750-757, fev. 2010.

NAKAJIMA, R. *et al.* Towards Development of improved serodiagnostics for Tularemia by use of *Francisella tularensis* proteome microarrays. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 54, n. 7, p. 1755-1765, jul. 2016.

NELSON, C. *et al.* Tularemia- United States, 2001-2010. **Morbidity and Mostality Weekly Report**, Atlanta, v. 62, n. 47, p. 963-966, nov. 2013.

OYSTON, P. C. F.; SJOSTEDT, A.; TITBALL, R. W. Tularaemia: bioterrorism defence renews interest in *Francisella tularensis*. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 4, p. 967-978, dec. 2004.

PAVAN, M. E. *et al.* *Bacillus anthracis*: uma mirada molecular a um patógeno célebre. **Revista argentina de microbiologia**, Buenos Aires, v. 43, 294-310, n. 4, p. out. 2011.

PINTO, V. N. Bioterrorism: Health sector alertness. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, Mumbai, v. 4, n. 1, p. 24-28, jan. 2013.

PIRES, F. P. A.; SILVA, A. T. F. S. M. A utilização da engenharia genética na produção de armas biológicas. **Revista militar**, Lisboa, v. 2482, n. 347, 2008.

PORTUGAL. Instituto Nacional de Saúde. **Boletim Epidemiológico**. Ed. 13. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde, 2015.

PRICE, P. A.; JIN, J.; GOLDMAN, W. E. Pulmonary infection by *Yersinia pestis* rapidly establishes a permissive environment for microbial proliferation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 109, n. 8, p. 3083-3088, feb. 2012.

RAMBAUSK, D.; CARDOSO, T. A.O.; NAVARRO, M. B. M. A. Bioterrorismo, riscos biológicos e as medidas de biossegurança aplicáveis ao Brasil. **Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 1181-1205, set. 2014.

RANJBAR, R.; BEHZADI, P.; MAMMINA, C. Respiratory Tularemia: *Francisella tularensis* and Microarray Probe Designing. **The open Microbiology Journal**, Sharjah, v. 10, n.16, p. 176-182, nov. 2016.

ROZSA, L. A proposal for the classification of biological weapons sensu lato. **Theory Bioscience**, Jena, v. 133, n. 3-4, p. 129-134, dez. 2014.

SAAVEDRA, R. C.; DIAS, J. P. Infecção por *Yersinia pestis*, no Estado da Bahia: controle efetivo ou silêncio epidemiológico? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 2, p. 223-227, mar. 2011.

SANGIONI, L. A. *et al.* Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 1, p. 91-99, jan. 2013.

SANTAROSSA, N. Forças armadas e o risco do bioterrorismo. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, n. 12, 2015, Curitiba. **Risco biológico e bioproteção no contexto da defesa**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2015.

SCHATZMAYR, H. G.; BARTH, O. M. Bioterrorismo e microrganismos patogênicos. **História, Ciência, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, p. 1735-1749, oct./dec. 2013.

SCHNEIDER, K. R.; PARISH, M. E.; GOODRICH, R. M. **Clostridium botulinum**. 2019. Disponível em: < <https://articles.extension.org/pages/13215/clostridium-botulinum> > 2019.

SHAPIRO, D. S. Surge Capacity for Response to Bioterrorism In Hospital Clinical Microbiology Laboratories. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 12, p. 5372-5376, dez. 2003.

SOBEL, J. Botulism. **Clinical infectious Diseases**, Oxford city, v. 41, n. 8, p. 1167-1173, oct. 2005.

SOBRAL, M. M. A. **Biopreparação- Microrganismos Passíveis de Serem Utilizados como Arma Biológicas**. 2017. 109 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias- Faculdade de Ciências e Tecnologia da Saúde, Lisboa, 2017.

SUK, E. J. *et al.* Dual use research and technological diffusion: reconsidering the bioterrorism threat spectrum. **PLOS Pathogens**, Califórnia, v. 7, n. 1, p.123- 125, jan. 2011.

SWEENEY, D. A. *et al.* Anthrax infection. **American Journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 184, n. 12, p. 1333-1341, dec. 2011.

TEGOS, G. P. Biodefense: trends and challenges in combating biological warfare agents. **Virulence**, Austin, v. 4, n. 8, p. 740-744, nov. 2013.

THOMPSON, R. N. *et al.* Control fast or control smart: when should invading pathogens be controlled?. **PLOS**, San Francisco, v. 14, n. 2, p. 1-21, fev. 2018.

VILLA, B. P. **O uso de vírus como potencial arma biológica**. 2017. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso- Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017.

VOSGERAU, D. S. R.; ROMANOWSKI, J. P. Estudo de revisão: implicações conceituais e metodológicas. **Revista Diálogo Educacional**, Curitiba, v. 14, n. 41, p. 165-189, jan./abr. 2014.

ZAPPALA, B. S. **Bioterrorismo: A condição Brasileira no âmbito da Segurança Nacional e o impacto na Saúde Pública**. 2017. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso- Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017.